

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.09.029

新疆地区维吾尔族和汉族人群 CaSR 基因多态性与草酸钙肾结石关系的研究*

艾日班·莫合太 杜 恒 邵 齐 张云宇 马沛莉 木拉提·马合木提[△]

(新疆医科大学第二附属医院 泌尿外科 新疆 乌鲁木齐 830054)

摘要 目的:探讨新疆地区维吾尔族和汉族草酸钙结石与钙敏感受体 (calcium sensitive receptor, CaSR) 基因多态性之间的关系。**方法:**选择 398 例临床确诊泌尿系草酸钙结石患者(200 例维吾尔族, 198 例汉族)和 399 例正常对照者(200 例维吾尔族, 199 例汉族), 应用 SnaPshot 方法对 CaSR 基因两位点(rs1042636, rs1801726)的基因型及等位基因频率进行检测, 并分析其与草酸钙结石发病的相关性以及其对血钙、24 h 尿钙水平的影响。**结果:**各组 2 个位点的基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。汉族结石组与汉族对照组及维吾尔族结石组与维吾尔族对照组 rs1042636, rs1801726 位点基因型分布及基因频率差异均无统计学意义($P>0.05$)。维吾尔族和汉族 rs1042636 基因型及等位基因频率比较差异有统计学意义 ($P<0.05$), 且维吾尔族人群携带 rs1042636 等位基因 A 的风险高于汉族人群(病例组中 OR 值 =2.145, %95CI=[1.602~2.866], $P<0.01$; 对照组中 OR 值 =1.773, % 95CI=[1.332~2.359], $P<0.01$), 其中维 / 汉病例组中等位基因频率分别为 A=278(69.5%) / 204(51.5%), G=122(30.5%) / 192(48.5%); 维 / 汉对照组中等位基因频率分别为 A=264(66.0%) / 208(52.3%), G=136(34.0%) / 190(47.7%)。而病例组和对照组 rs1801726 基因型频率差异无统计学意义($P>0.05$); 汉族病例组、对照组发现 GG+AG 基因型较 AA 基因型有较高的尿钙水平(病例组: $P=0.007$ 和对照组: $P=0.006$), 维吾尔族人群该位点与两项指标无相关性。**结论:**CaSR 基因 2 个基因位点 rs1042636, rs1801726 可能不是新疆地区维吾尔族和汉族草酸钙结石发病的危险因子, 两族 rs1042636 基因多态性分布存在差异, rs1042636 位点基因多态性能影响汉族人群尿钙排泄, 可能汉族调节钙排泄的遗传因素之一。

关键词: 钙敏感受体基因(CaSR); 草酸钙结石; 维吾尔族; 汉族

中图分类号: R692.4 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2018)09-1735-06

Effect of CaSR Gene Polymorphism on the Formation of Idiopathic Calcium Oxalate Stones by Serum Calcium and 24 Hour Urinary Calcium of Uigur and Han Population in Xinjiang Region*

Airiban·Mohetai, DU Heng, SHAO Qi, ZHANG Yun-yu, MA Pei-li, Mulati·Mahemuti[△]

(Dept of Urology, The Second affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830054, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation of calcium sensitive receptor (CaSR) gene polymorphism with the incidence of idiopathic calcium oxalate stones in Uygur and Han population in Xinjiang. **Methods:** 398 cases of ICS patients (200 case of Uygur and 198 case of Han) and 399 cases of controls (200 controls of Uygur and 199 controls of Han) were selected in this study. The CaSR gene rs1042636, rs1801726 polymorphism was analyzed by the methods of SnaPshot and the genotype distribution was compared between different groups. The serum calcium and 24 h urinary calcium excretion levels were compared among different genotypes in both case and control groups. **Results:** Single Nucleotide Polymorphism(SNP) rs1042636, SNPrs1801726 of CaSR gene were detected, in case group and control group of each nationalities, the genotype frequencies of the two loci are in compliance with Hardy-Weinberg equilibrium. There was no significant difference found in genotype frequencies and allele of rs1042636 and rs1801726 loci between case and controls in both Hans and Uygurs ($P>0.05$). For CaSR gene rs1042636 polymorphism respectively in the cases and controls, the statistical result of its genotype was (cases: $P=0.001$; controls: $P=0.024$), the A allele in uygur both in cases and controls was higher comparing with those Hans, the Statistical results of its allele was in cases OR=2.145 % 95CI= [1.602~2.866] $P<0.01$, in controls OR=1.773 % 95CI= [1.332~2.359] $P<0.01$, allele frequencies of Uygur/Han in case group were A=278 (69.5%)/204 (51.5%), G=122 (30.5%)/192 (48.5%); Uygur/Han in control group were A=264 (66.0%)/208 (52.3%), G=136 (34.0%)/190 (47.7%). However, for CaSR gene rs1801726 the genotype frequencies and allele was no significant difference between two ethnic groups. Furthermore, we also found that in Hans population the individuals who carried genotype AG+GG had the higher urinary calcium than who carriers AA genotype, in Han case: $P=0.007$ and in control group: $P=0.006$, but in Uygur population the correlation was not significant.

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2015211C105)

作者简介: 艾日班·莫合太 (1991-), 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 泌尿系结石与肿瘤, E-mail: 543086033@qq.com, 电话: 18690198035

[△] 通讯作者: 木拉提·马合木提, E-mail: mekit@126.com

(收稿日期: 2017-10-25 接受日期: 2017-11-18)

007 and in Han controls: $P=0.006$), in Uyghur population the serum calcium and 24hour urinary calcium had no significant difference among different genotype of CaSR gene two SNP. **Conclusion:** The rs1042636, rs1801726 polymorphisms of CaSR Gene had no associated with the risk of idiopathic calcium oxalate stones in Xinjiang region. In Han population, CaSR gene rs1042636 polymorphism had effect on the urinary calcium excretion, it may be one of the genetic factors for regulating the calcium excretion.

Key words: CaSR; Idiopathic calcium oxalate stones(ICS); Uyghur; Han

Chinese Library Classification(CLC): R692.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)09-1735-06

前言

近年来,随着遗传学和分子生物技术的发展,许多泌尿系结石相关易感基因被发现,遗传因素在泌尿系结石发病因素中的作用日益受到重视。国外已有研究显示 CaSR 基因与不同种族特发性肾结石患病相关,在含钙肾结石形成中发挥关键性作用^[1-4]。流行病学调查显示其发病有明显的地域、种族差异。新疆作为我国结石高发区,亦是多民族聚居地,却关于 CaSR 基因多态性与草酸钙肾结石相关性的研究相对较少。为了解 CaSR 基因多态性与新疆地区维吾尔族、汉族人群草酸钙肾结石发病的相关性,我们研究了 CaSR 基因两位点 rs1042636、rs1801726 在新疆地区维吾尔族、汉族中多态分布与 2 个民族人群中泌尿系结石发病的相关性。

1 资料与方法

1.1 病例资料

选择 2016 年 6 月~12 月在新疆医科大学第一、二附属医院就诊的新疆地区维吾尔族、汉族草酸钙肾结石患者分别 200、198 例,维吾尔族患者的男女比例为 133:67,发病年龄 35~57,平均 (44 ± 11) 岁,汉族患者男女比例为 141:57,发病年龄 33~59,平均 (45 ± 9) 岁,不合并其它疾病(肥胖、糖尿病、高血压等)。另外同期的性别、年龄相匹配的无尿结石的健康体检者和健康医院职工 399 例被纳入这次研究,其中维吾尔族 200 例,年龄范围 33~59,平均 (43 ± 9) 岁,男女比例为 137:73,汉族 199 例,男女比例为 140:59,年龄 36~60 岁,平均 (44 ± 10) 岁。维吾尔族、汉族结石组与健康对照组在上述匹配因素等差异均无统计学意义 ($P>0.05$),且所有本次研究入选对象在新疆生活超过 10 年。所有结石样本经自体,腔内泌尿外科术后或取得并且通过红外光谱分析技术进行结石成分分析确定为草酸钙结石选取。所有人选者均知情并同意,且本研究得到新疆医科大学第一、第二附属医院伦理委员会的批准。

1.2 主要仪器与试剂

琼脂糖 (上海生工生物工程技术有限公司, A811BA0014), Trans2K DNA Marker (北京全式金, BM101-01), SNaPshot Multiplex Kit (ABI, 4323161), $6 \times$ loading buffer (北京全式金, GH101-01), 基因组提取试剂盒(Qiagen, 202605), 凝胶成像仪(上海天能科技有限公司, Tanon-2500), 水平电泳槽及电源 (北京市六一仪器厂, DYCZ-21 及 DYY-6C 型), 台式高速冷冻离心机 (上海力申科学仪器有限公司, Neofuge 15R), 核酸蛋白定量仪 (北京凯奥科技发展有限公司, K5500)。

1.3 方法

1.3.1 血液、尿液样本采集及生化检测 抽取病例组与对照组患者空腹外周静脉血 3 mL, 采血时分别用 EDTA 抗凝真空采血管和普通生化采血管, 抗凝血冻存于 -80°C 保存, 待提取 DNA 备用。非抗凝血用于生化检测血钙。所有人正常钙饮食 3 d, 收集每例 24 h 尿液, 测定尿生化和尿量, 计算 24 小时尿钙排泄总量。所有对象血液钙检测采用日本 CL-7300 全自动生化分析仪, 尿液生化采用生化分析仪检测。

1.3.2 基因组 DNA 制备 采用 DNA 提取试剂盒提取各组对象血中 DNA, DNA 样本取 1 μL 1% 琼脂糖电泳对其样本进行质量检查以及浓度估计, 然后根据估计的浓度将样本稀释到工作浓度 5-10 ng/ μL 。

1.3.3 SNP 标签的选择及引物的设计 通过 NCBI 最新的数据库, 登陆人类 HapMap 计划数据库, 参照 II 期及 III 期数据库, 利用 Haploview4.2 软件查找标签 SNP, 获得 CaSR 基因的钙代谢紊乱人群中分布的标签 SNP (TAGging SNP): rs1042636、rs1801726, 并设计 PCR 引物, 用于扩增目的片段, 设计 SNP 位点的延伸引物(表 1)用于单碱基延伸。引物用在线 Primer3 软件设(<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)。

1.3.4 基因型分析 PCR 产物用 Qiagen 公司的 HotStarTaq 进行多重 PCR 获得, 其体系为 $10 \times$ Buffer (25 mM MgCl_2) 1.5 μL , 多重 PCR 引物 (10 μM) 0.15 μL /条, dNTP (10 mM) 0.3 μL , HotStar(5 U/ μL) 0.2 μL , DNA 1.0 μL , Mg^{2+} (25 mM) 1.5 μL , 加水补至 15 μL 。程序为: 95°C 3 min; (94°C 15 s, 60°C 15 s) 每个循环下降 0.5°C , 72°C 30 s, 11 个循环; 94°C 15 s, 54°C 15 s, 72°C 30 s, 24 个循环; 72°C 3 min, 4°C 持续。在 3 μL PCR 产物中加入 *ExoI* (20 U/ μL) 0.2 μL 和 FastAP (1 U/ μL) 0.8 μL , *ExoI* buffer 0.7 μL 加水补至 7 μL 37°C 温浴 15 min, 80°C 灭活 15 min, 主要是用 *ExoI* 去除反应产物中的剩余引物, 用 FastAP 去除反应中剩余的 DNTP。纯化后用 ABI 公司的 SNaPshot Multiplex Kit 进行延伸反应。延伸产物用 Hi-Di Formamide 纯化后将各组混匀, 95°C 变性 5 min 后上 ABI3730XL 测序仪。SNP 分型用 GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems Co.Ltd.USA) 来分析。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 各基因型、等位基因频率分布差异及与草酸钙结石的关系采用 χ^2 检验, 不同基因型患者血钙、24 h 尿钙的水平比较采用 t 检验(满足正态分布及方差齐性时), 未满足正态分布及方差齐性时采用修正 t 检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CaSR 基因位点多态性遗传平衡检验

由表 1, 2 可知, CaSR 基因 2 个位点在汉族病例组和对照

组及维族病例组和对对照组基因型的观察值和期望值均符合 样本具有代表性。

Hardy-Weinberg 的平衡法则($P>0.05$),吻合度检验良好,所选

表 1 汉族 2 个 SNP 位点基因型分布 Hardy-Weinberg 平衡检验

Table 1 Hardy-Weinberg equilibrium test in Han population for two SNP

SNP	Allele 1/2	Group	Observed(expected)			HWP
			1/1	1/2	2/2	
rs1042636	A/G	Han cases(n=198)	50(52.55)	104(98.91)	44(46.55)	0.469
		Han controls(n=199)	60(54.35)	88(99.3)	51(45.35)	0.109
rs1801726	C/G	Han cases(n=198)	189(189.10)	9(8.80)	0(0.10)	0.743
		Han controls(n=199)	195(195.02)	4(3.96)	0(0.02)	0.886

Note: HWP for Hardy-Weinberg test P value.

表 2 维吾尔族 2 个 SNP 位点基因型分布 Hardy-Weinberg 平衡检验

Table 2 Hardy-Weinberg equilibrium test in Uyghur population for two SNP

SNP	Allele 1/2	Group	Observed(expected)			HWP
			1/1	1/2	2/2	
rs1042636	A/G	Uyghur cases(n=200)	95(96.61)	88(84.79)	17(18.61)	0.592
		Uyghur controls(n=200)	82(87.12)	100(89.76)	18(23.12)	0.107
rs1801726	C/G	Uyghur cases(n=200)	184(184.32)	16(15.36)	0(0.32)	0.556
		Uyghur controls(n=200)	193(193.06)	7(6.88)	0(0.06)	0.801

2.2 CaSR 基因两位点 rs1042636 和 rs1801726 基因型及等位基因频率比较

CaSR 基因 rs1042636 位点有野生型 AA、杂合型 AG、突变型 GG 3 种基因型;rs1801726 位点有野生型 CC、杂合型 CG、所有被我们纳入的对象均未见突变型 GG 基因型,见表 3~4。表 3 和 4 提示维吾尔族、汉族分层内比较结石组与对照组 CaSR 两位点 rs1042636、rs1801726 基因型分布及基因频率均

无统计学差异($P>0.05$),结果未提示 CaSR 基因 2 个位点 SNP 与草酸钙结石发病相关。由表 5 可见,rs1042636 位点基因型分布及基因频率在两族之间差异有统计学意义($P<0.05$),并维吾尔族携带 rs1042636 等位基因 A 的风险高于汉族 ((病例组中 OR 值 =2.145,%95CI=[1.602~2.866], $P<0.01$;对照组中 OR 值 =1.773,% 95CI=[1.332~2.359]), $P<0.01$)。而 rs1801726 位点基因型分布未发现两族间有统计学意义的差异($P>0.05$),见表 5。

表 3 汉族结石组与对照组 CaSR 基因两位点基因型分布与等位基因频率

Table 3 CaSR gene two SNPs polymorphism allele and genotype frequency of cases and controls in Xinjiang Han population

SNP	Cases(n=198)	Controls(n=199)	OR	95%CI	P
rs1042636					
Genotype(%)					
AA	50(25.3%)	60(30.2%)	1.001		
AG	104(52.5%)	88(44.2%)			
GG	44(22.2%)	51(25.6%)			
AG+GG2	148(74.7%)	139(69.8%)	0.783	0.504~1.216	0.276
Allele(%)					
A	204(51.5%)	192(48.5%)	1.001		
G	208(52.3%)	190(47.7%)	0.971	0.735~1.282	0.833
rs1801726					
Genotype(%)					
CC	189(95.5%)	195(98.0%)	1.001		
CG	9(4.5%)	4(2.0%)			
GG	0(0%)	0(0%)			
CG+GG3	9(4.5%)	4(2.0%)	0.431	0.130~10423	0.156
Allele(%)					
C	387(97.7%)	394(99.0%)	1.001		
G	9(2.3%)	4(1.0%)	0.437	0.133~1.429	0.159

Note: OR (odd ratio); CI (confidenceinterval).1: reference factor Genotype/Allele; 2: genotype AA compared with genotype AG+GG; 3: genotype CC compared with genotype CG+GG;

表 4 维吾尔族结石组与对照组 CaSR/CaSR 基因两位点基因型分布与等位基因频率

Table 4 CaSR gene two SNPs polymorphism allele and genotype frequency of cases and controls in Xinjiang Uyghur population

SNP	Cases(n=200)	Controls(n=200)	OR	95%CI	P
rs1042636					
Genotype(%)					
AA	95(47.5%)	82(40%)	1.1.001		
AG	88(44.0%)	100(50.0%)			
GG	17(8.5%)	18(9.0%)			
AG+GG2	105(52.5%)	118(59%)	1.302	0.877-1.934	0.191
Allele(%)					
A	278(69.5%)	264(66.0%)	1.001		
G	122(30.5%)	136(34.0%)	1.174	0.872-1.580	0.29
rs1801726					
Genotype(%)					
CC	184(92.0%)	193(96.5%)	1.001		
CG	16(8.0%)	7(3.5%)			
GG	0(0%)	0(0%)			
CG+GG3	16(8.0%)	7(3.5%)	1.302		
Allele(%)					
C	384(96.0%)	16(4.0%)	1.001		
G	393(98.3%)	7(1.8%)	0.417	0.168-1.037	0.053

表 5 CaSR 基因两位点在维吾尔、汉族两族基因型及等位基因频率的分布及优势比

Table 5 Comparison of CaSR gene two SNPs polymorphism allele and genotype frequency between Uyghur and Han population in Xinjiang

SNP	Uyghur cases(n=200)	Han cases(n=198)	OR	95%CI	P
rs1042636					
Genotype(%)					
AA	95(47.5%)	50(25.3%)	1.001		
AG	88(44.0%)	104(52.5%)			
GG	17(8.5%)	44(22.2%)			
AG+GG2	183(91.5%)	188(77.7%)	1.952	1.311~2.907	0.001
Allele(%)					
A	278(69.5%)	204(51.5%)	1.001		
G	122(30.5%)	192(48.5%)	2.145	1.602~2.866	<0.001
rs1801726					
Genotype(%)					
CC	184(92.0%)	189(95.5%)	1.001		
CG	16(8.0%)	9(4.5%)			
GG	0(0%)	0(0%)			
CG+GG3	16(8.0%)	9(4.5%)	0.548	0.2236~1.270	0.156
Allele(%)					
C	384(96%)	387(97.7%)	1.001		
G	16(4.0%)	9(2.3%)	0.558	0.244~1.278	0.162
SNP	Uyghur controls (n=200)	Han cases(n=198)	OR	95%CI	P
rs1042636					
Genotype(%)					
AA	82(41.0%)	60(30.2%)	1.001		
AG	100(50.0%)	88(44.2%)			
GG	18(9.0%)	51(25.6%)			
AG+GG2	118(59.0%)	139(69.8%)	1.610	1.065~2.435	0.024

Allele(%)					
A	264(66.0%)	208(52.3%)	1.001		
G	136(34.0%)	190(47.7%)	1.773	1.333~2.359	<0.001
rs1801726					
Genotype(%)					
CC	184(92.0%)	189(95.5%)	1.001		
CG	16(8.0%)	9(4.5%)			
GG	0(0%)	0(0%)			
CG+GG3	16(8.0%)	9(4.5%)	0.548	0.236~1.270	0.156
Allele(%)					
C	384(96%)	387(97.7%)	1.001		
G	16(4.0%)	9(2.3%)	0.558	0.244~1.278	0.162

note:"OR (odd ratio); CI (confidence interval).1:reference factor Genotype/Allele; 2: genotype AA compared with genotype AG+GG; 3: genotype CC compared with genotype CG+GG, the risk of carrying A allele in Uyghurs was higher than Hans both in the case group (OR=2.145, 95%CI: 1.602~2.866, P<0.001) and control group(OR=1.773, 95%CI: 1.332~2.359, P<0.001).

2.3 汉族、维吾尔族结石患者 CaSR 基因两位点多态性与血钙、24 h 尿钙的关系

分别比较 CaSR 基因两位点病例组、对照组中携带突变型, 杂合型基因与野生型基因型者血钙以及 24 小时尿钙排泄总量, 见表 6。CaSR 基因 rs1042636 位点汉族病例组和对照组内携带有 AG+GG 基因型者与携带有 AA 基因型者比较, 前者

24 小时尿中钙排泄量水平均高于后者(病例组: P=0.007 和对照组: P=0.006), 而血钙差异均无统计学意义(P>0.05)。维吾尔族病例组和对照组内该位点因位点与上述指标均无相关性。rs1801726 位点在各组内未发现基因多态性改变, 故未比较上述两指标。

表 6 CaSR 基因 rs1042636(990gly)位点多态性与维吾尔、汉族血钙、24 h 尿钙的关系($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Association different genotypes of rs1042636(990gly)with serum Ca²⁺ and 24 hours urinary calcium excretion of Uyghur and Han population in Xinjiang($\bar{x} \pm s$)

Indicators	Cases			
	Han		Uyghur	
	AA(n=50)	AG+GG(n=148)	AA(n=95)	AG+GG(n=105)
Serum calcium(mmol/L)	2.262± 0.141	2.271± 0.24	2.217± 0.139	2.22± 0.208
24 hUrinary calcium (mmol/24 h)	2.861± 1.362	3.249± 1.973*	2.837± 1.221	2.823± 1.391
Indicators	Controls			
	Han		Uyghur	
	AA(n=60)	AG+GG(n=139)	AA(n=82)	AG+GG(n=118)
Serum calcium(mmol/L)	2.241± 0.950	2.267± 0.110	2.245± 0.107	2.232± 1.152
25 hUrinary calcium (mmol/24 h)	2.817± 1.429	3.831± 1.321*	2.857± 1.113	2.902± 1.232

3 讨论

钙敏感受体(calcium-sensing receptor, CaSR)是调节肾小管 Ca²⁺ 浓度的重要蛋白, 是 G 蛋白偶联受体的 C 家族成员, 由 Brown 等于 1993 年首次发现^[9]。人类 CaSR 基因定位于染色体 3q13.3-21, 有 7 个外显子, 长度为 3234bp^[6]。该基因在人群中主要存在 3 种多态性, 位于羧基端第 7 外显子, 分别是 rs1801725 (A986S, G>T)、rs1042636(R990G, A>G)和 rs1801726(Q1011E, C>G)。钙敏感受体主要分布在甲状旁腺、肾脏、骨骼和胃肠等处。在肾脏, CaSR 主要分布在肾小球、肾小管和集合管等各处^[4], 其中髓袢升支粗段分布最丰富。细胞外离子 Ca²⁺ 浓度上升, Ca²⁺ 与细胞膜 CaSR 的二裂片状的捕虫夹(venus-flytrap, VFT)

结构域结合并激活 CaSR, 活化的 CaSR 不仅抑制甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)促进的主动重吸收的作用, 还可以抑制静息状态时肾皮质髓袢升支粗段钙的被动重吸收^[7]。钙稳态对于生物体的各项生理功能至关重要。细胞外游离钙浓度的调控主要依赖于 3 种钙调激素: 甲状旁腺素(PTH)、1, 25-(OH)₂D₃ 及降钙素^[8]。CaSR 通过调节甲状旁腺素(PTH)的分泌和肾小管细胞对钙的重吸收来维持机体钙平衡。国外已有研究表明 CaSR 基因的多个多态性位点与含钙肾结石和特发性高尿钙的发病风险相关^[9,10]。相关文献证明 Casr 基因位点 rs1042636 G 等位基因与不同种族特发性肾结石患病相关, 且相关程度有所差异^[11-13]。Shakhssalim 等^[13]通过研究 99 例含钙肾结石复发患者及 107 例健康者 CaSR 基因第 7 外显子的 3 个

位点进行了分型,发现位点 rs1801725、rs1042636 和 rs1801726 基因多态性与伊朗人群含钙肾结石形成相关,血钙浓度与 rs1042636 和 rs1801726 等位基因明显相关,而与 rs1801725 等位基因无关。Guha 等^[14]发现 CaSR 基因 rs1042636 多态性能增加 CaSR 的 Ca^{2+} 敏感性及尿钙排泄,可能增加含钙肾结石的患病风险。但也有相反的研究报告,Ferreira^[15]等对 100 位高尿钙及 101 例尿钙正常的含钙结石患者进行 CaSR 基因多态性的研究,结果显示:高尿钙组与尿钙正常组 CaSR 基因上的三个多态性位点(rs1801725、rs1042636、rs1801726)基因型分布和等位基因频率均没有发现统计学差异。国内杨奕、王少刚^[16]等纳入 76 例湖北地区汉族特发性高钙尿患者及 126 例健康对照者检测上述 3 个基因位点单核苷酸多态性分布,未发现 rs1042636 位基因型分布在高尿钙组和对照组有统计学意义的差异,但高尿钙组中 GG+AG 基因型较 AA 基因型个体 24h 尿钙排泄总量明显升高,认为位点 rs1042636 多态性不是特发性高尿钙发生的易感基因,但在高尿钙患者中能影响尿中钙的排泄程度。谢坤^[17]等研究 90 列黑龙江地区的泌尿系结石患者和 90 例健康对照者,检测其 CaSR 基因两位点 rs1042636、rs1801725 基因多态性,结果未发现上述两基因位点与泌尿系结石发病的直接相关性。国内外学者对于 CaSR 基因多态性与尿结石形关系已有较充分的研究,国内 Qi Ding 等^[18]研究发现 CaSR 基因的 rs1042636 位点多态性与常熟市汉族人群含钙肾结石发病风险明显相关,其中突变型及杂合性 AG+GG 基因型肾结石发病风险是纯合型 AA 基因型的 1.45 倍 (95% CI 1.04-2.03),并对结石成分进行分析发现 rs1042636 多态性与草酸钙结石发病的关系最为密切。

CaSR 基因的标签 SNP 中,目前的研究热点是 rs1042636,故本研究选取该位点进行的研究,方便和既往文献进行参照。同时,选取非重点标签 rs1801726 进行研究,力求使研究结果更加全面且具有代表性。本研究的人群中,CaSR 外显子 7 两基因位点多态性在各组中分布符合 Hardy-Weinberg 定律,而 rs1801726 位点核苷酸未见 GG 基因型,其基因型分布和既往报道的白人中的频率有明显不同^[19,20],与刘洋^[21]等研究纳入的哈萨克族、蒙古族、汉族等研究对象基因型相符。本研究显示维吾尔、汉族分层内比较病例组与对照组 CaSR 基因 rs1042636、rs1801726 位点基因型分布及等位基因频率均无统计学意义,病例组和对照组内维汉两族之间 rs1042636 位点基因型分布及频率有极显著的统计学差异。由于 rs1042636 位点不同等位基因在 2 个民族分层内病例组与正常组间的分布无统计学意义,所以只能说明人种间的差异,与新疆地区维吾尔族、汉族草酸钙结石发病无关联,两个基因位点可能不是草酸钙结石发病的危险因子,这结果与 Qind Ding^[18]等研究结果不一致,与谢坤^[17]研究结果相仿。可能 CaSR 在肾脏分布的种群差异、同种族地区差异有关。我们还发现汉族群众两组内突变型及杂合子型基因 GG+AG 携带者 24 小时钙排泄量较纯合子型基因 AA 携带个体明显升高,提示汉族中 CaSR rs1042636 G 等位基因增加尿中钙 24 小时总排泄量。rs1042636 位点各基因型间比较血钙,24h 尿钙无统计学意义。rs1042636 位点 GG 基因型在汉族人群中较维吾尔族更常见,病例组中(22.2%vs8.5%)、对照组中(25.6%vs9%),这可能是汉族人群人与维吾尔族人群该位点的

SNP 分布频率不同而造成对疾病易感性不同,在汉族人群中 CaSR 能更大程度地调节钙排泄。本研究结果提示 CaSR 基因 rs1042636、rs1801726 点多态性不是新疆地区维吾尔族、汉族草酸钙结石发病的易感基因,可能是参与汉族人群调节钙排泄的复杂遗传因素之一,其作用在草酸钙结石中很小但值得进一步研究。为减少生存环境的影响,本研究所有纳入对象均为新疆生活 10 年以上,且经过 3 天正常饮食后收集外周血、24 小时尿,但结果未发现 rs1042636 AG 多态性与 2 个民族血钙变化有关,与王鸥^[22]等研究结果不同,分析其原因可能是同种族人群中样本的随机性以及结石发生原因的地域性有关。

综上所述,CaSR 基因可能是体内调节钙的排泄的众多遗传因素之一。本研究选取了与特发性草酸钙结石和高尿钙关系密切的 CaSR 基因多态性位点 rs1042636 和 rs1801726 作为研究对象,结果显示 CaSR 基因第 7 外显子 990 位 G 等位基因能增加汉族结石患者尿钙排泄程度,从而有可能导致发生高钙尿,但未发现其与新疆地区维汉民族草酸钙结石发病无明显相关性,为进一步的明确上述结论仍需要大样本病例对照实验来进一步研究证实。

参考文献(References)

- [1] Liu K, Wang X, Ye J, et al. The G Allele of CaSR R990G Polymorphism Increases Susceptibility to Urolithiasis and Hypercalciuria: Evidences from a Comprehensive Meta-Analysis [J]. Biomed Research International, 2015, 2015: 1-12
- [2] Zhang C, Zhuo Y, Moniz H A, et al. Direct Determination of Multiple Ligand Interactions with the Extracellular Domain of the Calcium Sensing Receptor[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(48): 33529-33542
- [3] Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T, et al. Genetics and calcium nephrolithiasis[J]. Kidney International, 2011, 80(6): 587-593
- [4] Arcidiacono T, Mingione A, Macrina L, et al. Idiopathic Calcium Nephrolithiasis: A Review of Pathogenic Mechanisms in the Light of Genetic Studies[J]. American Journal of Nephrology, 2014, 40(6): 499
- [5] Brown E M, Gamba G, Ricciardi D, et al. Cloning and characterization of an extracellular $\text{Ca}(2+)$ -sensing receptor from bovine parathyroid [J]. Nature 1993, 366(6455): 575-580
- [6] Monico C G, Milliner D S. Genetic determinants of urolithiasis[J]. Nature Reviews Nephrology, 2012, 8(3): 151-162
- [7] Toka H R, Pollak M R, Houillier P. Calcium Sensing in the Renal Tubule[J]. Physiology, 2015, 30(4): 317
- [8] Díaz-Soto G, Rocher A, García-Rodríguez C, et al. The Calcium-Sensing Receptor in Health and Disease[J]. International Review of Cell & Molecular Biology, 2016, 327: 321
- [9] Vahe C, Benomar K, Espiard S, et al. Diseases associated with calcium-sensing receptor [J]. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2017, 12 (1): 19
- [10] Lai K C, Lin W Y, Man K M, et al. Association of interleukin-18 gene polymorphisms with calcium oxalate kidney stone disease [J]. Scand J Urol Nephrol, 2010, 44(1): 20-26
- [11] Hamilton D C, Grover V K, Smith C A, et al. Heterogeneous Disease Modeling for Hardy-Weinberg Disequilibrium in Case-Control Studies: Application to Renal Stones and Calcium Sensing Receptor Polymorphisms [J]. Annals of Human Genetics, 2009, 73(2): 176-183

- [9] Hu HY, Wu CY, Huang N, et al. Increased risk of tuberculosis in patients with end-stage renal disease: A population-based cohort study in Taiwan, a country of high incidence of end-stage renal disease[J]. *Epidemiology and Infection*, 2014, 142(1): 191-199
- [10] Hung SY, Lin TM, Chang MY, et al. Risk factors of sensitization to human leukocyte antigen in end-stage renal disease patients[J]. *Human Immunology: Official Journal of the American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*, 2014, 75(6): 531-535
- [11] Wu MJ, Lo YC, Lan JL, et al. Outcome of lupus nephritis after entering into end-stage renal disease and comparison between different treatment modalities: A nationwide population-based cohort study in Taiwan[J]. *Transplantation Proceedings*, 2014, 46(2): 339-341
- [12] Chen YJ, Kung PT, Wang YH, et al. Greater risk of hip fracture in hemodialysis than in peritoneal dialysis[J]. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 2014, 25(5): 1513-1518
- [13] Huang KW, Leu HB, Luo JC, et al. Different peptic ulcer bleeding risk in chronic kidney disease and end-stage renal disease patients receiving different dialysis [J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2014, 59(4): 807-813
- [14] Rivera GSC, Perez GH, Madero M, et al. Identification of impeding factors for dry weight achievement in end-stage renal disease after appropriate kidney graft function [J]. *Artificial Organs*, 2014, 38 (2): 113-120
- [15] Li PKT, Chow KM. Peritoneal dialysis-first policy made successful: Perspectives and actions [J]. *American Journal of Kidney Diseases: The official journal of the National Kidney Foundation*, 2013, 62(5): 993-1005
- [16] Popli S, Sun Y, Tang HL, et al. Acidosis and coma in adult diabetic maintenance dialysis patients with extreme hyperglycemia[J]. *International Urology and Nephrology*, 2013, 45(6): 1687-1692
- [17] Purnell TS, Auguste P, Crews DC, et al. Comparison of life participation activities among adults treated by hemodialysis, peritoneal dialysis, and kidney transplantation: A systematic review [J]. *American Journal of Kidney Diseases: The official journal of the National Kidney Foundation*, 2013, 62(5): 953-973
- [18] Lin CS, Chen SJ, Sung CC, et al. Hemodialysis Is Associated with Increased Peripheral Artery Occlusive Disease Risk Among Patients With End-Stage Renal Disease A Nationwide Population-Based Cohort Study[J]. *Medicine*, 2015, 94(28): 117-123
- [19] Demirkol D, Karacabey BN, Aygun F, et al. Three Cases of Emphysematous Cystitis in End-Stage Renal Disease Patients Undergoing Hemodialysis and Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis [J]. *Therapeutic apheresis and dialysis: official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*, 2015, 19(1): 95-97
- [20] Teixeira JP, Combs SA, Teitelbaum I, et al. Peritoneal dialysis: update on patient survival[J]. *Clinical nephrology*, 2015, 83(1): 1-10

(上接第 1740 页)

- [12] O'Seaghdha CM, Yang Q, Glazer NL, et al. Common variants in the calcium-sensing receptor gene are associated with total serum calcium levels[J]. *Human Molecular Genetics*, 2010, 19: 4296-4303
- [13] Shakhssalim N, Kazemi B, Basiri A, et al. Association between calcium-sensing receptor gene polymorphisms and recurrent calcium kidney stone disease: a comprehensive gene analysis [J]. *Scandinavian Journal of Urology & Nephrology*, 2010, 44(6): 406-412
- [14] Guha M, Bankura B, Ghosh S, et al. Polymorphisms in CaSR and CLDN14 Genes Associated with Increased Risk of Kidney Stone Disease in Patients from the Eastern Part of India [J]. *Plos One*, 2014, 10 (6)
- [15] Ferreira LG, Pereira AC, Heilberg IP. Vitamin D receptor and calcium-sensing receptor gene polymorphisms in hyperealeiuric stone forming patients[J]. *Nephron Clin Pract*, 2010, 114(2): c135-144
- [16] 杨奕,王少刚,叶章群,等.钙敏感受体基因第 7 外显子单核苷酸多态性与特发性高钙尿症的关系[J].*中华实验外科杂志*, 2006, 23(5): 588-590
- Yang Yi, Wang Shao-gang, Ye Zhang-qun, et al. Association between single polymorphism of calcium-sensing receptor and idiopathic hypercalciuria [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2006, 23 (5): 588-590
- [17] 谢坤,夏成兴,耿波,等.钙敏感受体(CaSR)基因 986、990 多态性与尿石症的相关性研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(10): 1953-1956
- Xie Kun, Xia Cheng-xing, Geng Bo, et al. Association between Calcium Sensitive Receptor (CaSR) Gene in 986,990 and Urinary Calculi [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2017, 17(10): 1953-1956
- [18] Ding Q, Fan B, Shi Y, Fan Z, et al. Calcium-Sensing Receptor Genetic Polymorphisms and Risk of Developing Nephrolithiasis in a Chinese Population[J]. *Urologia Internationalis*, 2017(Epub ahead of print)
- [19] Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, et al. Association of bone mineral density with polymorphism of the human calcium-sensing receptor locus[J]. *Calcif Tissue Int*, 2000, 66: 181-183
- [20] Katsumata K, Nishihawa K, Unno A, et al. Association of gene polymorphisms and bone density in Japanese girls [J]. *J Bone Miner Metab*, 2002, 20: 164-169
- [21] 刘洋,宋丽婷,褚衍茹,等.钙敏感受体基因 Rsl801726 位点单核苷酸多态性与骨质疏松的关系 [J]. *中华地方病学杂志*, 2016, 35(11): 797-802
- Liu Yang, Song Li-ting, Chu Yan-ru, et al. Relationship between Rsl801726 polymorphism of calcium sensing receptor gene and skeletal fluorosis [J]. *Chinese Journal of Endemiology*, 2016, 35(11): 797-802
- [22] 王鸥,孟迅吾,邢小平,等.北京地区汉族年轻妇女和原发性甲状旁腺功能亢进症患者钙敏感受体基因多态性的分布及其与血钙水平的相关性[J].*中国医学科学院学报*, 2005, 27(1): 114
- Wang Ou, Meng Xun-wu, Xing Xiao-ping, et al. Distribution of calcium-sensing receptor gene polymorphism and its association with serum calcium level in patients with primary hyperparathyroidism and healthy young Han women in Beijing [J]. *Acta Acad Med Sin*, 2005, 27(1): 114